

**Action de l'Isopropyl-N-Phényl Carbamate
sur un Dinoflagellé libre : l'*Amphidinium carterae* Hulburt.
Effets sur la croissance et la dinomitose**

E. MATTHYS-ROCHON*

RÉSUMÉ. — Dans le cadre d'une recherche sur la division de l'*Amphidinium carterae* Hulburt nous avons étudié les effets de l'Isopropyl-N-Phényl Carbamate (IPC) sur la croissance et les structures de ces algues. Nos résultats montrent que l'IPC inhibe la croissance cellulaire. Il semble initier la mitose et bloquer la cytodivision. L'analyse des ultrastructures nous a permis de préciser quelques aspects de la dinomitose et de suggérer que cet herbicide agit au niveau de centres organisateurs de microtubules (MTOCS).

SUMMARY. — Studying the division of *Amphidinium carterae* Hulburt we looked for the effects of IPC on growth and structures of these algae. Our results show the inhibition of cellular growth by IPC. In presence of the drug mitosis starts and cytodivision is prevented. Ultrastructures analysis gives some informations on dinomitosis and suggests that this herbicide could act on the microtubules organizing centers (MTOCS).

SUMMARY. — Studying the division of *Amphidinium carterae* Hulburt we looked for the effects of IPC on growth and structures of these algae. Our results show the inhibition of cellular growth by IPC. In presence of the drug mitosis starts and cytodivision is prevented.

Ultrastructures analysis gives some informations on dinomitosis and suggests that this herbicide could act on the microtubules organizing centers (MTOCS).

1. INTRODUCTION

L'isopropyl-N-Phényl Carbamate (IPC) ou pronamide est un herbicide connu pour son action inhibitrice de la croissance cellulaire et de la cytodivision (DOXEY, 1949; ENNIS, 1948). Contrairement à la colchicine (BORISY and TAYLOR, 1967) l'IPC ne semble pas se lier aux protéines microtubulaires et n'inhibe pas in vitro leur polymérisation (COSS and coll., 1975). Cette drogue n'a pas d'action sur les microtubules déjà présents (COSS and PICKETT-HEAPS, 1974) mais semble modifier l'orientation des microtubules fusoriaux en formation chez *Haemanthus* (HEPLER and JACKSON, 1969), *Ochromonas* (BROWN and BOUCK, 1974) et provoquer l'augmentation du nombre de centres organisateurs de microtubules (MTOCS) dans les cellules d'*Oedogonium* (COSS and PICKETT-HEAPS, 1974).

Dans le cadre d'une recherche sur la division de l'*Amphidinium carterae* (Dinoflagellés) (MATTHYS-ROCHON, 1979), nous avons utilisé l'IPC afin de bloquer ou de ralentir l'évolution de la dinomitose pour mieux en comprendre les mécanismes.

* Université Paris VII, Laboratoire de Biologie cellulaire végétale, Tour 53-54, 3ème étage, 2 place Jussieu, 75221 Paris Cédex 05.

En effet, chez les Dinoflagellés il n'y a pas de fuseau achromatique intranucléaire, mais dans la plupart des espèces, au moment de la division, des microtubules extranucléaires situés dans des canaux sont présents. Leur rôle dans la caryocinèse n'est pas clair. En particulier, ils pourraient être responsables de la séparation des chromatides puis de leur ségrégation dans les noyaux-fils, cette hypothèse n'excluant pas un rôle probable de la membrane nucléaire dans le mouvement des chromosomes.

Nous avons donc étudié l'action de l'IPC sur la croissance de populations algales (asynchrones et synchronisées) et observé en microscopie photonique et électronique, les effets de l'IPC au niveau cellulaire. Cette étude nous a permis de préciser quelques aspects de la dinomitose.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

a) Technique de culture et de synchronisation

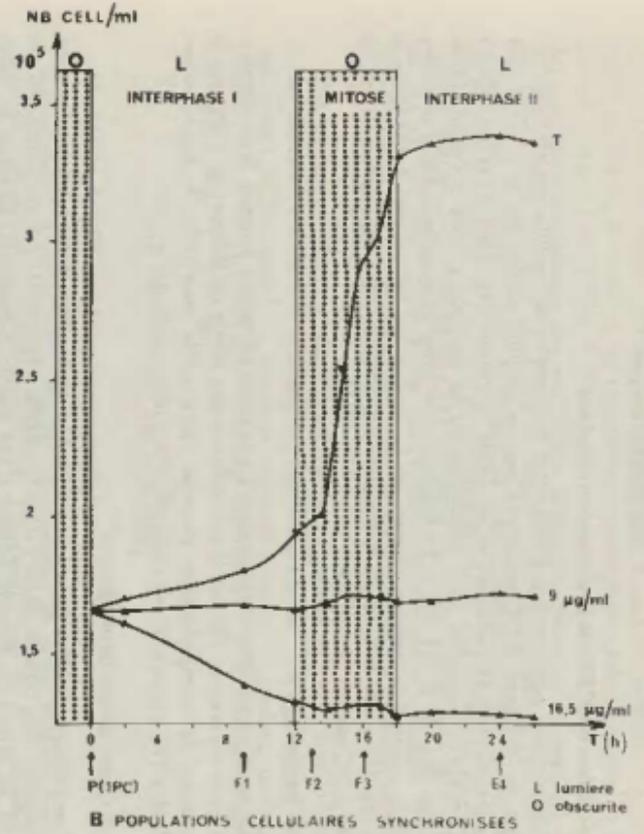
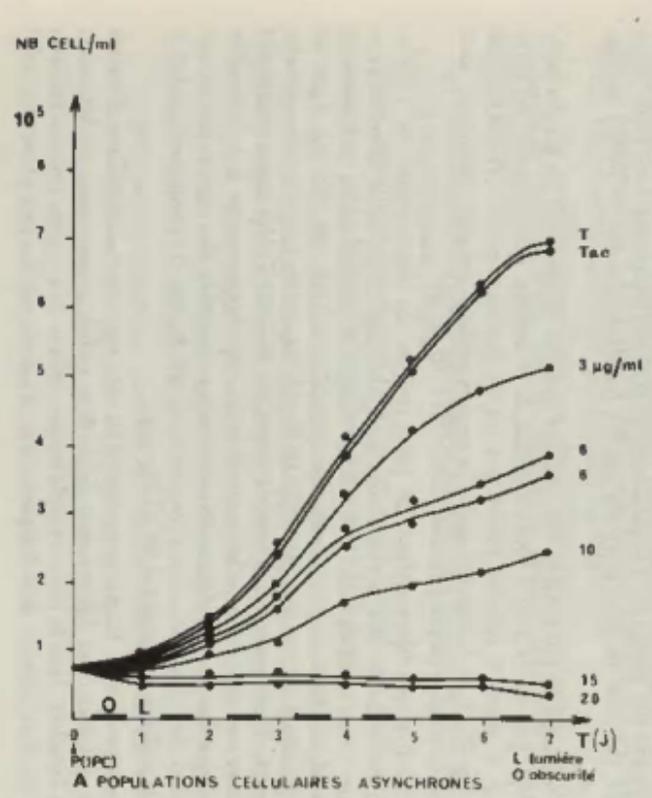
Les cultures d'*Amphidinium carterae* sont entretenues à 22°C dans un milieu à base d'eau de mer, enrichi en vitamines et sels minéraux (PROVASOLI, 1958) avec une périodicité d'éclairement 12-12. Dans certaines expériences, elles ont été synchronisées par une alternance de lumière et d'obscurité selon une méthode mise au point dans notre laboratoire (GALLERON, 1976). La croissance cellulaire est suivie par comptage des cellules à l'aide d'un compteur-coulter (Coultronics, modèle 3 F).

c) Observations cytologiques

Pour la microscopie photonique, les cellules ont été observées sans coloration après simple immobilisation par quelques gouttes de chloroforme ou d'éther. Les cellules préparées pour la microscopie électronique (MATTHYS-ROCHON, 1979) sont prélevées pendant la période de lumière dans le cas de cellules asynchrones (fig. A), après des temps de 1 à 7 jours et au cours des 24 heures d'un cycle pour les cellules synchronisées (fig. B, F1, F2, F3, F4). Des cellules traitées par l'IPC puis réensemencées dans un milieu dépourvu de drogue ont aussi été fixées pour en étudier les ultrastructures. L'ensemble des observations a été réalisé à l'aide du microscope Philips OPW de l'École Normale Supérieure de Jeunes Filles, 1 rue Maurice Arnoux, 92120 Montrouge).

c) Traitement du matériel

L'isopropyl-N-phényl carbamate a été dissous dans l'acétone. Nous avons vérifié que ce solvant ajouté aux cultures (concentration finale, 0,15% v/v) n'avait pas d'effet sur les cellules (fig. A. Tac : témoin en présence d'acétone). Les teneurs finales en IPC ont varié de 3 à 20 µg/ml de culture. Dans tous les cas le produit a été ajouté au début de l'expérience (voir P : adjonction du produit fig. A et fig. B). Les temps d'action ont été étalés de quelques heures à 7 jours.



Tab. I. — Action de l'isopropyl-N-phényl carbamate sur des populations cellulaires d'*Amphidinium carterae* (Dinoflagellés).

III. RÉSULTATS

a) Effets de l'IPC sur la croissance cellulaire

Les courbes représentant l'évolution de populations cellulaires au cours du temps, en présence d'IPC montrent que ce produit, ajouté dès le premier jour pour les cultures asynchrones et au début de l'interphase dans le cas des cellules synchronisées, entraîne une inhibition de la croissance chez l'*Amphidinium carterae* (fig. A, B - DI 50 = 10,5 $\mu\text{g/ml}$). Cet effet se manifeste dès la première division comme le suggère l'action de la drogue sur les cellules synchronisées (fig. B). Un arrêt total de la croissance est obtenu pour des doses voisines de 12 μg d'IPC par ml de culture.

b) Réversibilité

Lorsque les cellules traitées sont transférées en milieu normal, la multiplication peut reprendre. En fait la réversibilité des effets inhibiteurs de l'IPC sur la croissance de l'*Amphidinium carterae* est possible mais pour de faibles doses (3-7 $\mu\text{g/ml}$ de culture) et un temps d'action n'excédant pas 5 jours.

c) Observations cytologiques

Les cultures traitées présentent un aspect particulier. Pour des teneurs basses, la majorité des cellules nagent dans le milieu, cependant quelques-unes qui ont perdu au moins un flagelle adhèrent aux parois. Lorsque les doses et le temps d'action augmentent, le nombre des cellules nageuses diminue au profit de celles qui adhèrent aux parois ou s'accumulent au fond des récipients. Une zone brune est alors de plus en plus marquée sur les parois tandis que le milieu semble s'éclaircir.

En microscopie photonique on constate que les cellules sont de grande taille ($V \approx 2V_0$), puis après 2 ou 3 jours d'action de la drogue, elles forment des amas de 2, 3, 4 voire 5 cellules reliées par un ou plusieurs ponts cytoplasmiques (Pl. I, fig. 2, 3, 4, 5, 6). Au sein des grosses cellules, on peut distinguer, sans coloration, un gros noyau souvent bilobé (Pl. I, fig. 2, 3).

En microscopie électronique on peut repérer sur des sections de cellules traitées ou témoins des microtubules périphériques situés sous la membrane cellulaire. Dans le cytoplasme des cellules traitées et contrairement au témoin en interphase, on peut voir plusieurs bases flagellaires (3-4) (Pl. III, fig. 1) et au niveau plastidal 2-3 pyrénoides (Pl. III, fig. 2). Les dictyosomes sont nombreux et entourés d'une grande quantité de vésicules. Pour de faibles doses (3-7 $\mu\text{g/ml}$ de culture) et des temps relativement courts (quelques heures à 5 jours), les autres organites cytoplasmiques ne semblent pas modifiés. Par contre, les noyaux présentent des transformations importantes (Pl. II, fig. 2) comparativement à ceux des cellules non traitées (Pl. II, fig. 1).

Le noyau a une forme irrégulière (Pl. III, fig. 3) souvent bilobé dans les grosses cellules; dans les groupes de 2, 3, 4 cellules, une masse nucléaire est parfois localisée dans le pont cytoplasmique reliant deux corps cellulaires (Pl. I, fig. 1, 2). Les noyaux sont fréquemment traversés par un (ou plusieurs) canal

dont les sections longitudinales sont irrégulières. Ce canal est délimité par la membrane nucléaire et contient du cytoplasme, un organite (mitochondrie ou fraction de plaste) (Pl. IV, fig. 1, 2) et parfois des microtubules. Sur la membrane des canaux, on remarque des structures de type cinétochore souvent groupées par deux (Pl. V, fig. 1, 2). Ces «cinétochores» sont en contact du côté du cytoplasme avec des microtubules et du côté du nucléoplasme avec des chromosomes de formes variées en W, V, Y. Les chromosomes ont une structure en arceau caractéristique des Dinoflagellés (LIVOLANT and BOULIGAND, 1978). Dans un cas exceptionnel, nous avons observé des chromosomes «géants» (Pl. VII, fig. 2). Enfin dans le nucléoplasme, des amas granulaires sont souvent visibles à proximité de plusieurs chromosomes (Pl. VII, fig. 1).

Des cultures traitées (7 µg IPC/ml culture, pendant 3 jours) ont été transférées en milieu dépourvu de drogue. Signalons qu'avec notre matériel de tels transferts sont délicats et les fixations rarement réussies. Cependant, nous avons observé dans différents noyaux des chromosomes en V ou à 3 branches proches d'un grand canal (Pl. VII, fig. 3).

IV. DISCUSSION

a) Action de l'IPC sur la croissance cellulaire

Les courbes obtenues par comptage des cellules au cours du temps en présence de concentrations croissantes d'IPC (Tableau 1, fig. A, B) montrent que cette drogue est inhibitrice de la croissance chez l'*Amphidinium carterae*, effet déjà signalé chez d'autres organismes, *Ochromonas* (BROWN and BOUCK, 1974), *Oedogonium* (COSS and PICKETT-HEAPS, 1974), *Saprolegnia* (HEATH, 1975), *Haemanthus* (HEPLER and JACKSON, 1969).

Il a été possible de préciser qu'après adjonction du produit au début de l'interphase (Tableau 1, fig. B), la diminution de croissance s'observe dans les heures qui suivent.

b) Étude au microscope photonique de l'effet de l'IPC sur les cellules d'*Amphidinium carterae*

Chez les cellules traitées par l'IPC on constate d'abord une augmentation de volume, une perte de flagelles et un ralentissement de la nage.

Dans les cultures synchronisées, ces transformations sont décelables au cours de l'interphase, quelques heures après l'adjonction de la drogue. Elles sont semblables à celles que subissent des cellules témoins, proches de la mitose après 10-12 heures d'interphase. Par ailleurs, on constate la présence en nombre croissant au cours du temps de cellules doubles, triples, quadruples qui se déposent au fond des fioles de culture.

Ces observations suggèrent que l'IPC déclenche l'entrée en mitose des cellules alors que les cellules témoins sont encore en interphase ; ces mitoses semblent pour la plupart anormales et restent bloquées à différents stades de la cytodivision.

c) Étude de l'effet de l'IPC sur les ultrastructures des cellules d'*Ampbidinium carterae* (Pl. II, fig. 1, 2)

— Action sur les organites cytoplasmiques et les noyaux :

Une dizaine d'heures après avoir ajouté l'IPC, les cellules présentent des dictyosomes très développés, des bases flagellaires au nombre de 3 ou 4, un pyrène double ou triple, (Pl. III, fig. 1, 2). De telles images suggèrent qu'une multiplication des organites cytoplasmiques a eu lieu en présence de la drogue. Chez les témoins, ces figures sont aussi visibles mais plus tardivement, au début de la phase obscure, avant la caryocinèse (voir dans MATTHYS-ROCHON, 1979).

Quant aux noyaux, dès l'interphase l'analyse ultrastructurale montre qu'ils sont traversés par de grands canaux cytoplasmiques contenant de rares microtubules (Pl. V, fig. 2). Dans le nucléoplasme, des chromosomes de formes variées (en Y, en W, ...) (Pl. II, fig. 2, Pl. VI, fig. 1, 2) sont en contact avec la membrane des canaux au niveau de cinétochores souvent groupés par deux (Pl. VI, fig. 1, 2).

Ces figures ne sont pas habituellement repérables au cours de l'interphase (période lumineuse) d'un cycle de cellules synchronisées, mais pendant la phase obscure (voir dans MATTHYS-ROCHON, 1979). L'IPC semble donc non seulement initier la division des organites cytoplasmiques, mais aussi celle du noyau.

De plus, ces noyaux en division qui apparaissent plus précocement que chez les cellules témoins sont observables au moins jusqu'à la fin du cycle, c'est-à-dire pendant une période plus longue que chez les cellules normales.

Ce fait, en facilitant les observations, nous a permis de confirmer quelques aspects de la dinomitose. Ainsi l'existence de nombreux groupes de deux cinétochores au niveau des canaux montre que probablement et comme nous l'avions déjà suggéré (MATTHYS-ROCHON, 1979), cette structure se divise.

La présence de chromosomes en W dont les pointes sont en contact avec deux cinétochores et l'observation de chromosomes à trois branches dans des noyaux de cellules traitées puis replacées en milieu normal semblent confirmer l'idée que, comme chez les Eucaryotes, les chromosomes achèvent leur division par celle des cinétochores. Le chromosome à trois branches (Pl. VII, fig. 3) représenterait 3 des 4 branches de deux chromosomes dont l'extrémité (cinétochore) n'est pas encore divisée.

— Amas granulaires dans le nucléoplasme de cellules traitées :

On remarque sur les micrographies des amas granulaires situés à proximité de plusieurs chromosomes d'un même noyau (Pl. VII, fig. 1). Ils peuvent faire penser à des ribosomes qui seraient formés au niveau de boucles chromosomiques peu visibles mais présentes dans le nucléoplasme comme cela a été montré pour ce matériel. Chacune de ces boucles fonctionnerait comme un organisateur nucléolaire (NOR) et participerait à l'élaboration du nucléole (BABILLOT C., 1970a et b).

— Effet de l'IPC sur les microtubules :

Les microtubules périphériques sous-membranaires et ceux des bases flagel-

lares sont visibles après action de l'IPC. Par contre, les microtubules des canaux sont peu nombreux et ne forment pas de faisceaux comme chez les témoins. Ces observations suggèrent trois interprétations :

- Chez l'*Amphidinium* l'IPC ne semble pas avoir d'action sur le cytosquelette. Il y aurait deux types de microtubules; ceux qui sont résistants à la drogue et font partie du squelette de base, et ceux qui sont labiles, liés à la division. Ces conclusions sont analogues à celles d'autres études concernant l'action de l'IPC sur l'*Oedogonium* (COSS and PICKETT-HEAPS, 1974) et celle de la colchicine sur le *Dunaliella* (MARANO, 1980).

- Après traitement à l'IPC, les microtubules des canaux sont peu nombreux mais repérables. L'IPC ne semble donc pas inhiber (contrairement à la colchicine (BORISY and TAYLOR, 1967)) la formation de protéines microtubulaires et leur polymérisation. Des études *in vitro* (COSS and coll., 1975) ont d'ailleurs montré que l'IPC ne se lie pas aux protéines microtubulaires et n'inhibent pas leur association.

Dans les noyaux de cellules traitées, les microtubules présents en petit nombre dans les canaux ne sont pas régulièrement agencés, et ne forment pas de faisceaux comme chez les témoins. Par ailleurs, nous avons signalé que dans les groupes de 2-3-4 cellules qui n'ont pas achevé leur cytodivision, un noyau est parfois localisé de façon anormale au niveau d'un pont cytoplasmique reliant deux cellules. Ces observations nous font penser que chez l'*Amphidinium* comme chez d'autres matériels (COSS and PICKETT-HEAPS, 1974; COSS and coll., 1975) l'IPC agirait sur les centres organisateurs de microtubules (MTOCs). En effet, cette hypothèse expliquerait une action indirecte de l'IPC sur la formation des microtubules ainsi que sur leur disposition. Enfin, en attribuant aux microtubules un rôle dans la séparation des noyaux-fils, cette hypothèse permettrait également d'interpréter les cas de localisation anormale d'un des deux noyaux-fils.

En conclusion, l'herbicide isopropyl-N-phényl carbamate apparaît être un inhibiteur de croissance chez l'*Amphidinium carterae*. Il semble amorcer la division cellulaire mais inhiber la cytodivision. L'analyse ultrastructurale suggère que cette drogue agit au niveau des centres organisateurs de microtubules (MTOCs).

Divers travaux biochimiques ont tenté de déterminer le mode d'action des carbamates. Pour certains auteurs, ils perturberaient la transcription de l'ARNm (KEITT, 1967). Récemment, d'autres chercheurs ont montré que ces herbicides, en fait, réguleraient le niveau du Ca^{++} cellulaire en favorisant la libération de Ca^{++} à partir des mitochondries (HERTEL and coll., 1979). Ils agiraient ainsi indirectement sur l'assemblage ou le désassemblage des protéines microtubulaires.

L'auteur remercie Madame CERCUS, G. et Monsieur PRAT, P. pour leur précieuse collaboration technique.

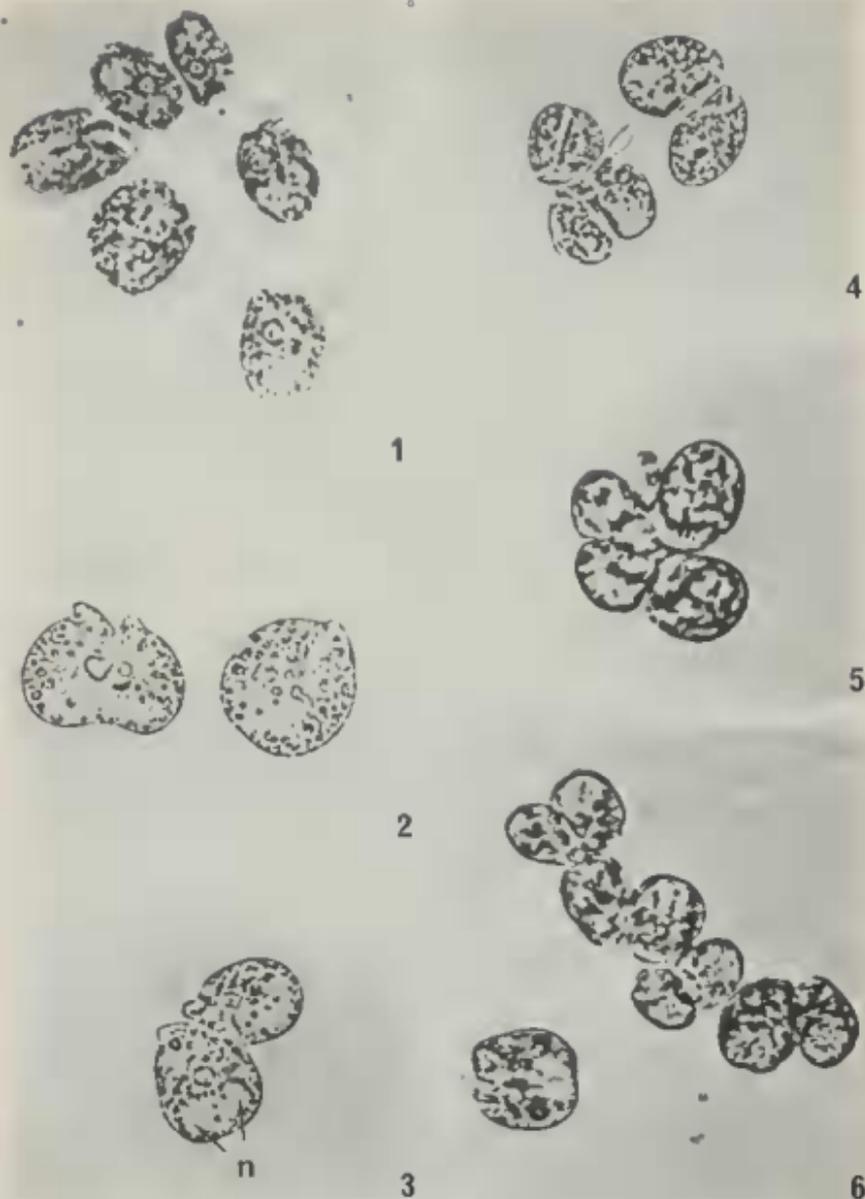
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BABILLOT, C., 1970a - Étude des effets de l'actinomycine D sur le noyau du Dinoflagellé. *Amphidinium carteri*. *J. Microscopie*, 9 : 485-502.

- BABILLOT, C., 1970b — Étude de l'incorporation d'uridine ^3H dans le noyau chez l'*Amphidinium carteri*. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 271 : 828-831.
- BORISY, G.G. and TAYLOR, E.W., 1967 — The mechanism of action of colchicine. Colchicine binding to sea urchin eggs and the mitotic apparatus. *J. Cell. Biol.*, 34 : 535-548.
- BROWN, D.L. and BOUCK, B.G., 1974 — Microtubule biogenesis and cell shape in *Ochromonas*. III. Effects of the herbicidal mitotic inhibitor isopropyl N phenyl carbamate on shape and flagellum regeneration. *Ibid.*, 61 : 514-536.
- COSS, R.A. and PICKETT-HEAPS, J.F., 1974 — The effects of isopropyl-N-phenyl carbamate on the green alga *Oedogonium cardiacum*. I. Cell division. *Ibid.*, 63 : 84-98.
- COSS, R.A., BLOODGOOD, R.A., BROWER, D.L., PICKETT HEAPS, J.D. and Mc INTOSCH, J.R., 1975 — Studies on the mechanism of action of isopropyl-N-phenyl carbamate. *Exptl. Cell Res.*, 92 : 394-398.
- DOXEY, D., 1949 — The effects of isopropyl N phenyl carbamate on mitosis in Rye and Omon. *Ann. Bot.*, 13 : 329-335.
- ENNIS, W.B., 1948 — Some cytological effects of O. Isopropyl N phenyl carbamate upon *Avena*. *Am. J. Bot.*, 35 : 15-23.
- GALLERON, C., 1976 — Synchronization of the marine Dinoflagellate : *Amphidinium carteri* in dense cultures. *J. Phycol.*, 12 : 69-73.
- HEATH, B.J., 1975 — The effect of Antimicrotubule agents on the growth and ultrastructure of the Fungus *Saprolegnia ferax* and their effectiveness in disrupting hyphal microtubules. *Protoplasma*, 85 : 147-176.
- HEPLER, P.K. and JACKSON, W.T., 1969 — Isopropyl N phenyl carbamate affects spindle microtubule orientation in dividing endosperm cells of *Haemanthus Katherinae* Baker. *J. Cell. Sci.*, 5 : 727-743.
- HERTEL, C., QUADER, H., ROBINSON, D.G., MARNE, D., 1979 — Possible mode of action of antimicrotubules herbicides. *Europ. J. Cell Biol.*, 20 : 116-135.
- JACKSON, W.T., 1969 — Regulation of mitosis. II. Interaction of isopropyl-N-phenyl carbamate and melatonin. *J. Cell. Sci.*, 5 : 745-755.
- KEITT G.W., 1967 — On the mode of action of carbamates herbicides. *Physiologia plantarum*, 20 : 1076-1082.
- LIVOLANT, F. and BOULIGAND, Y., 1978 — New observations of the twisted arrangement of Dinoflagellate chromosomes. *Chromosoma*, (Berl.), 68 : 21-44.
- MARANO, F.L., 1980 — Les effets de la colchicine sur le *Dunaliella bioculata* (Volvocales). en préparation.
- MATTHYS-ROCHON, E., 1979 — Évolution d'un Dinoflagellé libre au cours d'un cycle cellulaire. *J. Biol. Cell*, 35, 3 : 313-320.
- PROVASOLI, L., 1958 — Nutrition and Ecology of Protozoa and Algae. *Ann. Rev. Microbiology*, 12 : 279-308.

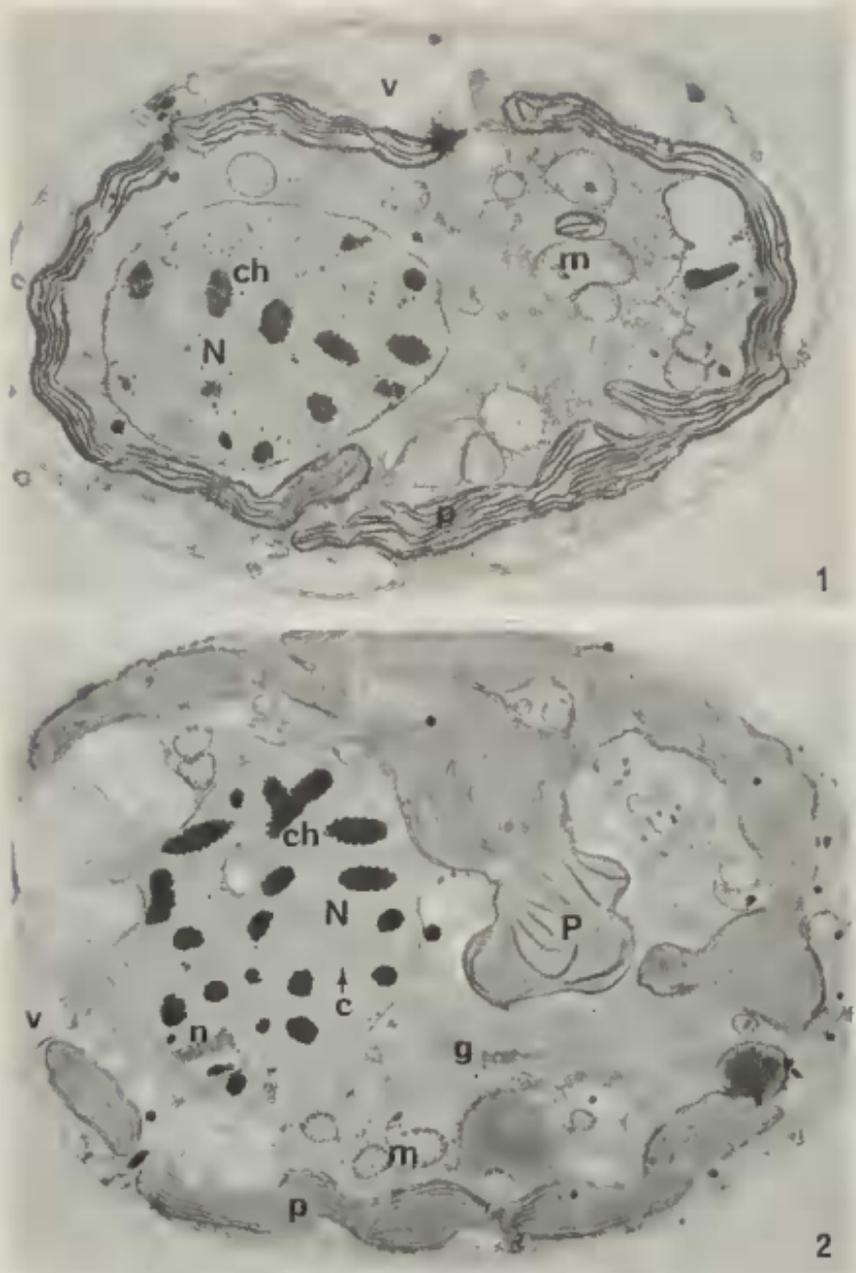
Abréviations utilisées sur les planches

a : amidon	m : mitochondrie	nu : nucléoplasme
bf : bases flagellaires	mbn : membrane nucléaire	p : plaste
c : canal	mg : masse granulaire	P : pyrénocide
ch : chromosome	mt : microtubule	v : vacuole
ci : cinétochore	n : nucléole	
g : golgi	N : noyau	

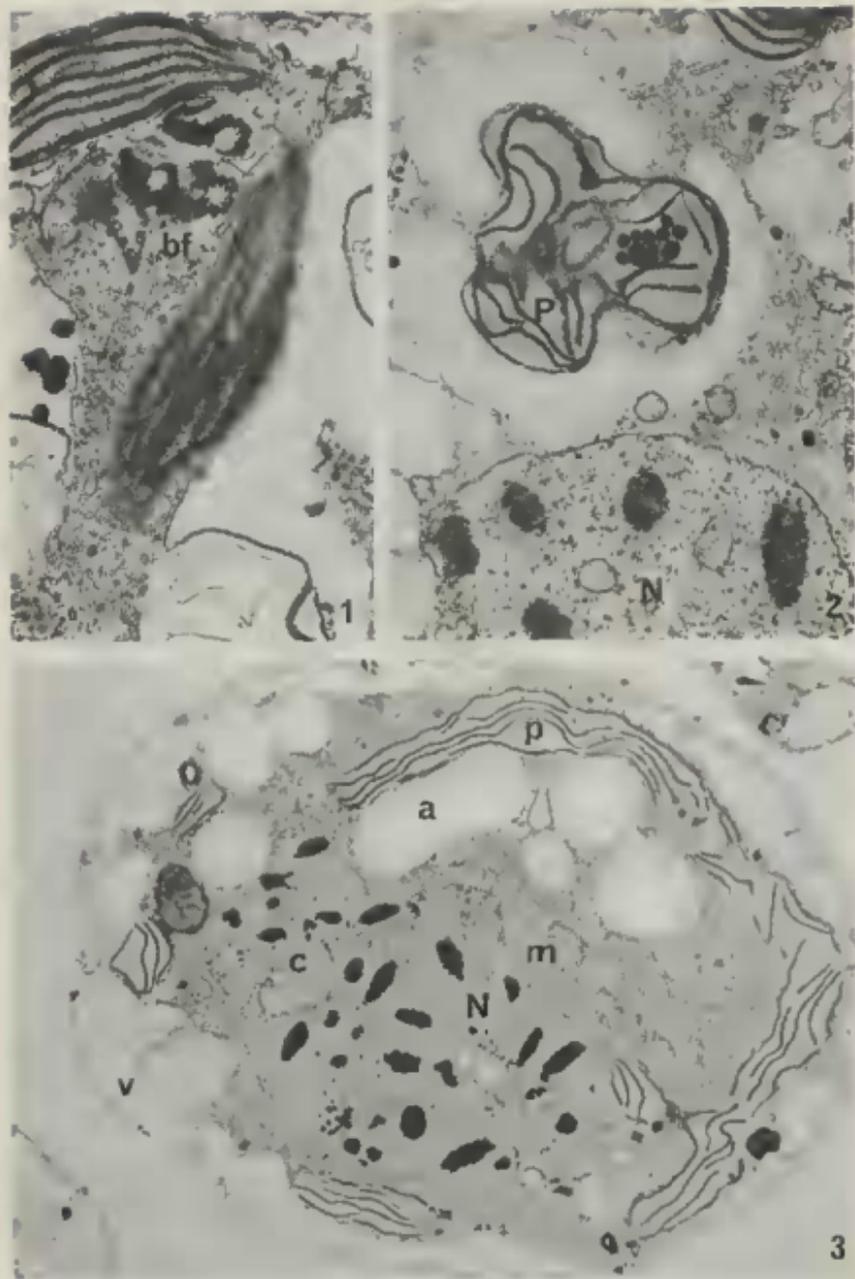


Pl. I. Cellules d'*Amphidinium carterae* observées en microscopie photonique : Cellules témoins, fig. 1, x 1200. Cellules traitées (3-7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de culture). Temps d'action 1 à 3 jours, on remarque de grosses cellules parfois doubles (fig. 2, x 1400) dans lesquelles on peut discerner l'emplacement d'un noyau bilobé (fig. 3, x 1200). Temps d'action 3 à 7 jours, des cellules triples (fig. 4, x 1200), quadruples (fig. 5, x 1400) et des chaînes (fig. 6, x 1200) sont visibles dans les cultures.



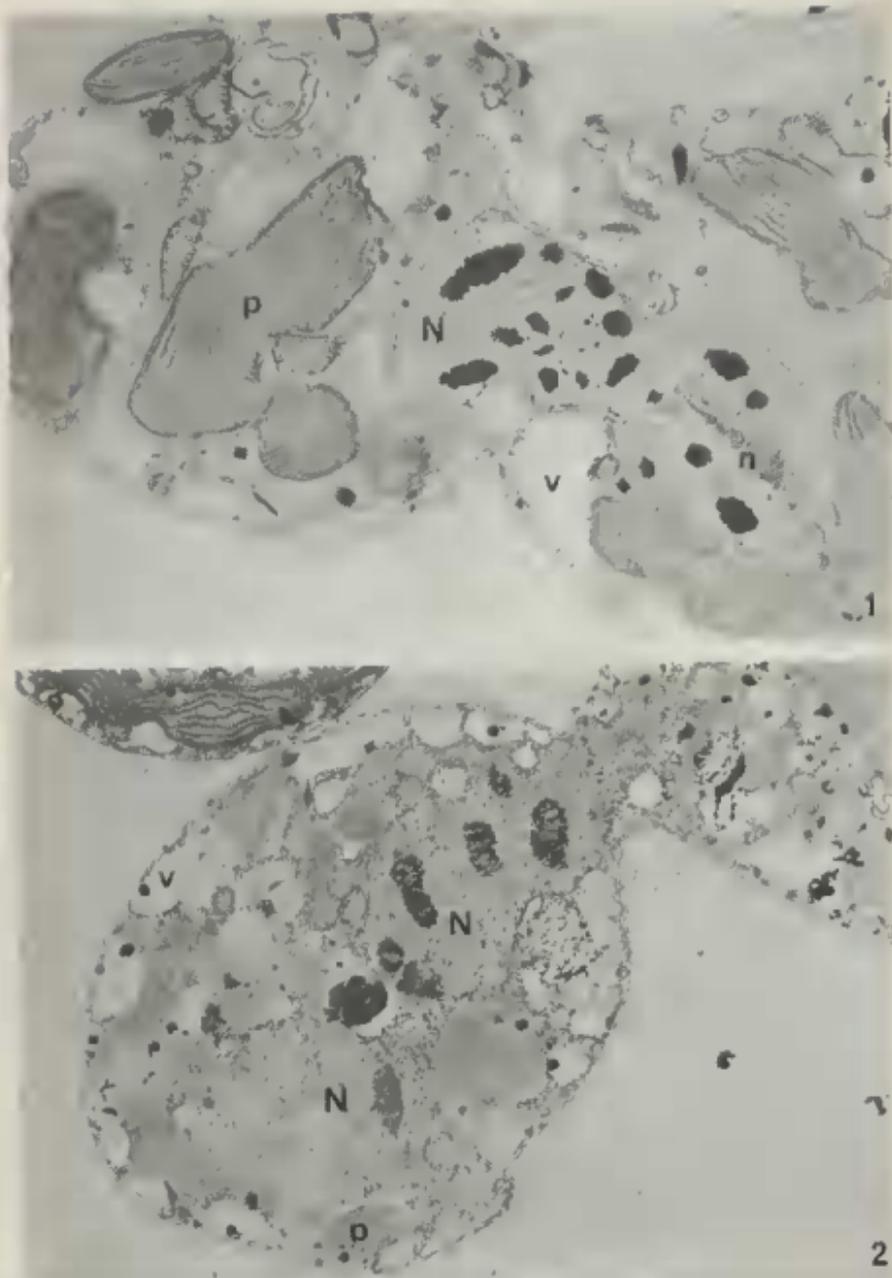


Pl. II. - Cellules d'*Amphidinium carterae* observées en microscopie électronique : Cellules rémoins, fig. 1, x 7800. Cellules traitées par l'IPC 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pendant 5 heures. On remarque dans les noyaux des sections de canaux et un chromosome en Y, fig. 2, x 7800.

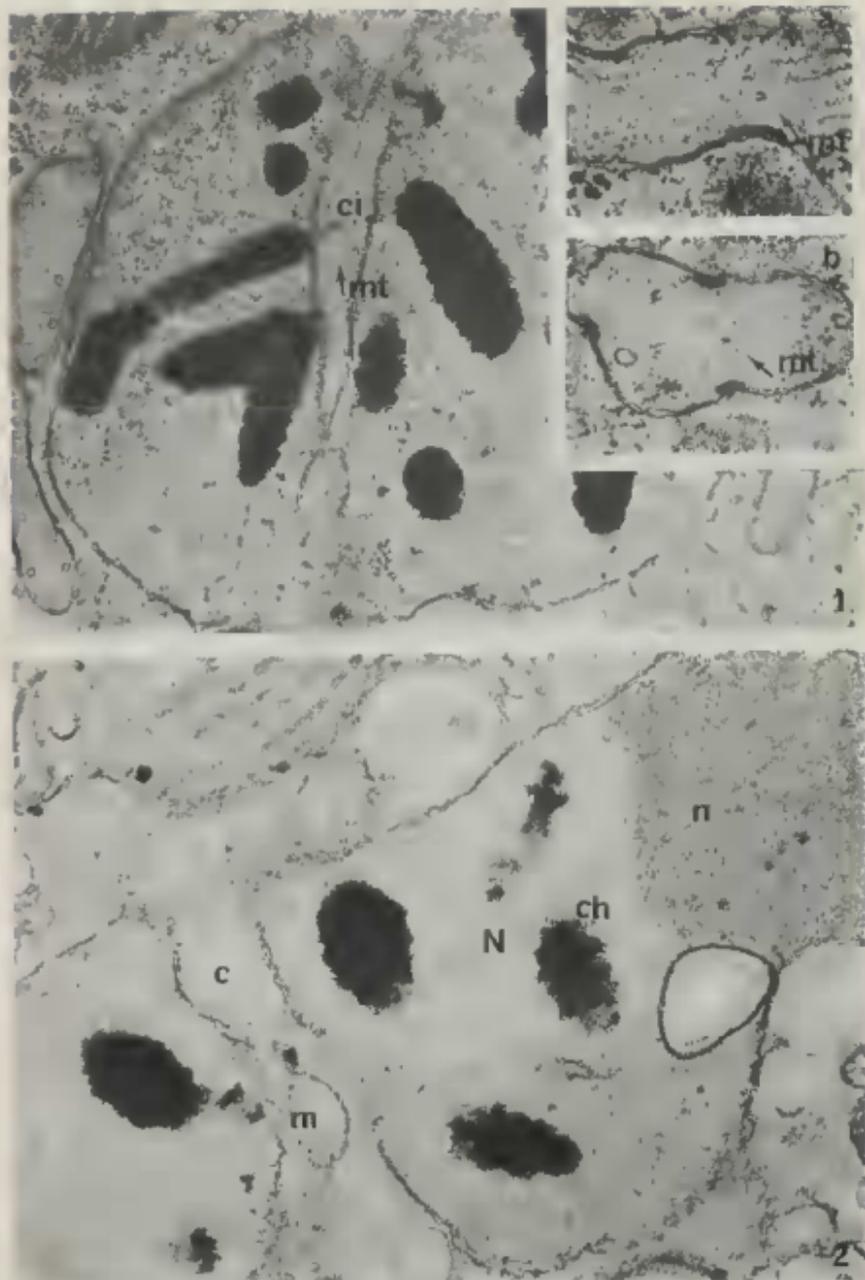


Pl. III. — Cellules d'*Amphidinium carterae* traitées par l'IPC : 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cult. Temps d'action : 4-6 heures. Plusieurs bases flagellaires sont visibles (fig. 1, x 18200). Pyrénoïde formé de 3 parties (fig 2, x 13500). Noyau traversé par des canaux (fig. 3, x 9600).



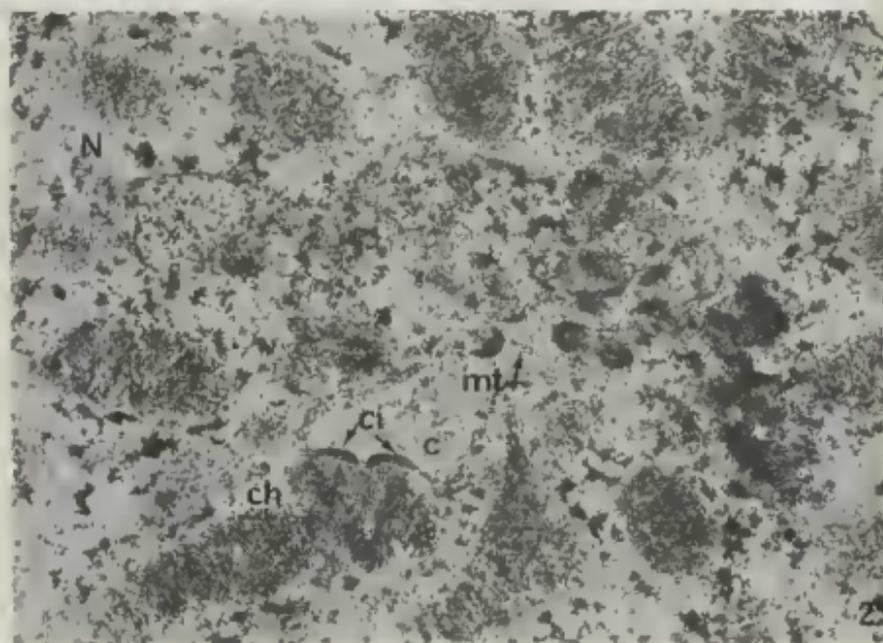
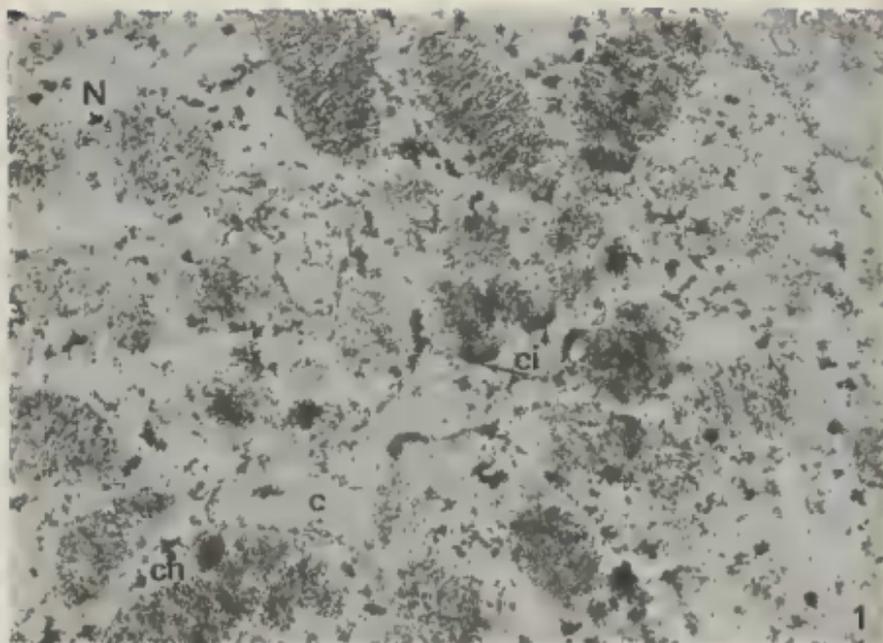


Pl. IV. — Cellules d'*Amphidinium carterae* traitées par l'IPC : 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cult. Temps d'action : 1 à 7 jours. Un noyau se situe entre deux cellules (fig. 1, x 11400), et parfois 2 noyaux dont l'un se trouve au niveau d'un pont cytoplasmique sont visibles dans une même cellule (fig 2, x 7700).



Pl. V. Noyaux de cellule d'*Amphidinium carterae*. Noyau d'un témoin en division présentant un grand canal qui contient des microtubules (mt). Sur la membrane d'un canal on distingue un «cinétochore» (ci), (fig. 1, x 25000). Détail d'un faisceau de microtubules dans un canal, sections longitudinale (a) transversale (b) (x 45600). Noyau d'une cellule traitée 9 µg/ml cult. Temps d'action : 4 6 heures. Un grand canal est visible, dans lequel on remarque une mitochondrie (fig. 2, x 25500).

BIBL. DU
MUSEUM
PARIS



Pl. VI - Micrographies de coupes séries de cellules d'*Amphidinium carterae* traitées par l'IPC : 9 μ g/ml cult. Temps d'action : 16 heures. Portions de noyaux montrant un grand canal, des chromosomes dont certains sont en forme de W (fig. 2) et des groupes de deux «cin tirochores». Quelques microtubules sont visibles (fig. 1 et 2, x 26000).



Pl. VII. Cellules d'*Amphidinium carterae* traitées par l'IPC : 9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cult. Temps d'action : 14 heures. Des masses granulaires proches des chromosomes sont visibles dans des noyaux (fig. 2, x 27200). Un cas rare où des chromosomes «agésants» ont été observés (fig. 2, x 10200). Cellules d'*Amphidinium carterae* traitées par l'IPC après report dans un milieu normal (pendant 3 jours). Portion de noyau montrant un grand canal (c) et des chromosomes en V ou en «trident» (fig. 3, x 24800).

